
INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung	1
1.1 PDZ-Proteine und Signaltransduktion	1
1.2 Der Wnt-Signaltransduktionsweg	4
1.2.1 Proteine des Wnt-Signaltransduktionsweges	4
1.2.2 Zielgene des Wnt-Signaltransduktionsweges	8
1.2.3 Embryogenese und Tumorprogression	9
1.2.4 Regulatoren der beta-Catenin/Tcf-abhängigen Transkription	11
1.2.5 Tcf1: Repressor der beta-Catenin/Tcf4-abhängigen Transkription	12
1.2.6 Modellorganismen für den Wnt-Signaltransduktionsweg	13
1.3 Bcr: negativer Regulator der pathogenen Effekte von Bcr-Abl	14
1.3.1 Bcr	14
1.3.2 Das Philadelphia-Chromosom	16
1.3.3 Einfluß von Bcr auf den Bcr-Abl-Phänotyp	17
2 Leitfaden dieser Arbeit	19
3 Material und Methoden	20
3.1 Material	20
3.1.1 Chemikalien	20
3.1.2 Antikörper	21
3.1.3 Kits	22
3.1.4 cDNA-Bibliotheken	22
3.1.5 Plasmide	23
3.1.6 Primer	25
3.1.7 Medien	25
3.1.8 Puffer und Lösungen	26
3.1.9 Zelllinien und ihre Haltung	28
3.2 Methoden	29
3.2.1 Liposomale Transfektion von pDNA und RNA-Oligonukleotide	29

3.2.2	Zellyse	30
3.2.3	Nukleinsäuretechniken	30
3.2.4	Herstellung kompetenter <i>E. coli</i> -Zellen	31
3.2.4.1	Transformation von kompetenten Zellen	32
3.2.5	Proteinbiochemische Methoden	32
3.2.6	TOPflash/FOPflash-Luziferaseassay	33
3.2.7	Konfokale Laserscanmikroskopie	35
3.2.7.1	Immunfluoreszenz zwecks Lokalisation von Proteinen	35
3.2.7.2	BrdU-Proliferationstest	36
3.2.8	Hefe Zwei-Hybrid Versuche	37
3.2.8.1	Transformation von Hefen	40
3.2.8.2	Der beta-Galaktosidasetest	41
3.2.8.3	Isolation von pDNA aus den Hefen	42
3.2.8.4	Transformation der pDNA in <i>E. coli</i> und deren Retransformation in Hefen	43
3.2.8.5	Amplifikation der B- und T-Zell-c-DNA-Bibliothek	44
4	Ergebnisse	45
4.1	Identifikation von PDZ-abhängigen Proteininteraktionen	45
4.1.1	Durchführung von Hefe Zwei-Hybrid Versuchen	45
4.1.2	PDZ-abhängige Interaktionspartner von Erbin und Scribble	47
4.1.2.1	HTLV1-Tax und APC: Interaktionspartner von ErbinCT	49
4.1.2.2	ErbinCT: Interaktionspartner von c-Rel, Bcr und Ryk	51
4.1.2.3	Binden Proteine mit einer Jab1/MPN-Domäne an PDZ-Zielsequenzen?	53
4.1.3	Proteininteraktionspartner der C-terminalen PDZ-Domäne von Erbin	55
4.1.4	Rai-Erbin Fusionsprotein	58
4.2	PDZ-Protein Erbin, Interaktionspartner von beta-Catenin und Modulator des Wnt-Signaltransduktionsweges	59
4.2.1	Endogene Interaktion zwischen beta-Catenin und Erbin, zwischen Bcr und Erbin in MKN-7-Zellen	60
4.2.2	Einfluß des PDZ-Proteins Erbin auf die Tcf-abhängige Genexpression	61
4.2.3	Lokalisation von Erbin und ErbinCT(PDZ) in HEK293-Zellen	63
4.2.4	Proliferative Rolle möglicher Erbin(PDZ)-Spleißvarianten	66
4.3	Bcr reguliert mittels seines N-Terminus die Genexpression von Zielgenen des Wnt-Signaltransduktionsweges	67
4.3.1	Endogene Interaktion zwischen Bcr und beta-Catenin in HEK293-Zellen	67

4.3.2	Identifikation der Binderegion von Bcr für den beta-Catenin/Bcr-Komplex	68
4.3.3	Charakterisierung von Bcr als Inhibitor der Tcf-abhängigen Gen-expression	69
4.3.4	Einfluß von Bcr auf den beta-Catenin/Tcf4-Komplex	72
4.3.5	Definition der MTG-Domäne für Bcr	73
4.3.6	Lokalisation von Bcr und beta-Catenin in HEK293-Zellen	75
4.3.7	Regulation der Expression von c-Myc durch Bcr in HCT116-Zellen	77
4.3.8	Reduktion der Expression von Bcr durch siRNA in HEK293-Zellen	79
4.3.9	Onkogenes Fusionsprotein Bcr-Abl: Interaktionspartner von beta-Catenin?	80
4.4	Bcr: multipler Inhibitor der Zielgene vom Wnt-Signaltransduktionsweg in Tcf1 exprimierenden Zellen	81
4.4.1	Bcr: Proteininteraktionspartner von Tcf1, Repressor der beta-Catenin/Tcf4-abhängigen Genexpression	81
4.4.1.1	Spezifische Expression von Tcf1	81
4.4.1.2	Endogene Interaktion zwischen Bcr und Tcf1 in HEK293T-Zellen	83
4.4.1.3	Regulation des beta-Catenin/Tcf1-Komplexes durch Bcr	84
4.4.1.4	IGF-abhängige Regulation des Tcf1/Bcr-Komplexes	87
5	Diskussion	89
5.1	Identifikation von Protein-Proteininteraktionen in Hefen	89
5.1.1	Virales Onkoprotein HTLV-1 Tax: PDZ-abhängiger Interaktionspartner von Erbin	90
5.1.2	Proteine mit der Jab1/MPN-Domäne: Interaktionspartner von Zielsequenzen von PDZ-Domänen?	90
5.2	Erbin und seine Erbin(PDZ)-Spleißvarianten: Antagonisten im Wnt-Signaltransduktionsweg?	91
5.3	Bcr: Regulator der Tcf-abhängigen Genexpression	93
5.3.1	Bcr: Interaktionspartner von beta-Catenin	93
5.3.2	Bcr: multipler Inhibitor der Zielgene vom Wnt-Signaltransduktionsweg in Tcf1 exprimierenden Zellen?	95
6	Zusammenfassung / Summary	97
7	Literaturliste	102
8	Lebenslauf	114
9	Anhang	116

9.1	Abkürzungsverzeichnis	116
9.2	Abbildungsverzeichnis	121
9.3	Tabellenverzeichnis	123
9.4	Protokollverzeichnis	123
9.5	Eigene Veröffentlichungen	124
9.5.1	Laufende Projekte	124
9.5.2	Patent	124